

PCT WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationales Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : A61K 7/48	A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/07558 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 17. Februar 2000 (17.02.00)		
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border-right: 1px solid black; padding: 5px;"> (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/05237 (22) Internationales Anmeldedatum: 22. Juli 1999 (22.07.99) (30) Prioritätsdaten: 198 34 816.9 1. August 1998 (01.08.98) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BÜNGER, Joachim [DE/DE]; Wilhelm-Leuschner-Strasse 181, D-64823 Gross-Umstadt (DE). DRILLER, Hans-Jürgen [DE/DE]; Santo-Tirso-Ring 71, D-64823 Gross-Umstadt (DE). (74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH; Post- fach, D-64271 Darmstadt (DE). </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; padding: 5px;"> (81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> </td> </tr> </table>			(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/05237 (22) Internationales Anmeldedatum: 22. Juli 1999 (22.07.99) (30) Prioritätsdaten: 198 34 816.9 1. August 1998 (01.08.98) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BÜNGER, Joachim [DE/DE]; Wilhelm-Leuschner-Strasse 181, D-64823 Gross-Umstadt (DE). DRILLER, Hans-Jürgen [DE/DE]; Santo-Tirso-Ring 71, D-64823 Gross-Umstadt (DE). (74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH; Post- fach, D-64271 Darmstadt (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/05237 (22) Internationales Anmeldedatum: 22. Juli 1999 (22.07.99) (30) Prioritätsdaten: 198 34 816.9 1. August 1998 (01.08.98) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BÜNGER, Joachim [DE/DE]; Wilhelm-Leuschner-Strasse 181, D-64823 Gross-Umstadt (DE). DRILLER, Hans-Jürgen [DE/DE]; Santo-Tirso-Ring 71, D-64823 Gross-Umstadt (DE). (74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH; Post- fach, D-64271 Darmstadt (DE).	(81) Bestimmungsstaaten: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>			
(54) Title: USE OF ECTOINE OR ECTOINE DERIVATIVES IN COSMETIC FORMULATIONS (54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON ECTOIN ODER ECTOIN-DERIVATEN IN KOSMETISCHEN FORMULIERUNGEN				
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> $\begin{array}{c} R^3 \\ \\ N - (C - R^4)_n \\ \quad \\ R^1 \quad N \\ \\ H \end{array} \quad (Ia)$ </div> <div style="text-align: center;"> $\begin{array}{c} R^3 \\ \\ HN - (C - R^4)_n \\ \quad \\ R^1 \quad N \end{array} \quad (Ib)$ </div> </div>				
(57) Abstract The invention relates to the use of one or more compounds selected from the compounds of formulas (Ia) and (Ib), their physiologically compatible salts and their stereoisomeric forms, where R ¹ , R ² , R ³ , R ⁴ and n have the meanings given in claim no.1, for the preparation of a cosmetic formulation. Said use is advantageous in protecting and stabilizing the nucleic acids of human skin cells.				
(57) Zusammenfassung Die Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen, ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln (Ia) und (Ib), den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln (Ia) und (Ib) und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln (Ia) und (Ib), wobei R ¹ , R ² , R ³ , R ⁴ und n die in Anspruch 1 gegebenen Bedeutungen besitzen, zur Herstellung einer kosmetischen Formulierung ist vorteilhaft zum Schutz und zur Stabilisierung der Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen geeignet.				

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

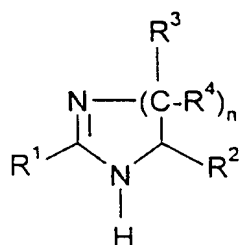
Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Verwendung von Ectoin oder Ectoin-Derivaten in kosmetischen Formulierungen

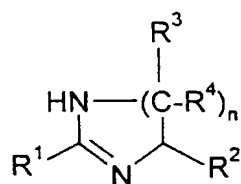
5 Die Erfindung betrifft die Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib

10



Ia

15



Ib,

20

den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, wobei

25

R^1 H oder Alkyl,

R^2 H, COOH, COO-Alkyl oder CO-NH- R^5 ,

30

R^3 und R^4 jeweils unabhängig voneinander H oder OH,

n 1, 2 oder 3,

35

Alkyl einen Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, und

R⁵ H, Alkyl, einen Aminosäurerest, Dipeptidrest oder Tripeptidrest

5

bedeuten, zur Herstellung einer kosmetischen Formulierung zum Schutz und zur Stabilisierung der Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen.

10

Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib zur Herstellung einer kosmetischen Formulierung zum Schutz und zur Stabilisierung der Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen vor physikalischen, chemischen und biologischen Einflüssen wie z.B. vor Strahlung (UV-, VIS- und IR-Strahlung), insbesondere UV-Strahlung, vor denaturierenden Substanzen, vor Enzymen, insbesondere Endonukleasen und Restriktionsenzymen und vor Viren, insbesondere Herpes-Viren.

20

25

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib zusammen mit einem oder mehreren UV-Filtern zur Herstellung einer kosmetischen Formulierung zum Schutz und zur Stabilisierung der Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen vor UV-Strahlung, insbesondere vor UV-A-Strahlung.

30

35

Die Nukleinsäuren, Desoxyribonukleinsäure (DNS bzw. DNA) und Ribonukleinsäuren (RNS bzw. RNA), treten in allen Zellen des menschlichen Körpers auf. Sie spielen eine entscheidende Rolle bei der Vererbung und regeln den Aufbau der Proteine, die für das Leben und die Funktion jeder Zelle notwendig sind. Die Desoxyribonukleinsäure trägt die Information für die Proteinsynthese, während die Ribonukleinsäuren an der Weiterleitung dieser Informationen in die Proteinsynthese beteiligt sind. Schädigungen

der Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen, insbesondere der Desoxyribonukleinsäure, können zu chronischen Hautveränderungen führen.

5 Die Haut ist als Grenzschicht und Oberfläche des menschlichen Körpers einer Vielzahl externer Streßfaktoren ausgesetzt. Die Human-Haut ist ein Organ, das mit verschiedenartig spezialisierten Zelltypen - den Keratino-
zyten, Melanozyten, Langerhans-Zellen, Merkel-Zellen und eingelagerten
10 Sinneszellen - den Körper vor äußeren Einflüssen schützt. Hierbei ist zwischen äußeren physikalischen, chemischen und biologischen Einflüssen auf die menschliche Haut zu unterscheiden. Zu den äußeren physikalischen Einflüssen sind thermische und mechanische Einflüsse sowie die
Einwirkung von Strahlung, z.B. UV-, VIS- und IR-Strahlung, zu zählen.
15 Unter den äußeren chemischen Einflüssen sind insbesondere die Einwirkung von Toxinen, Allergenen und Substanzen, die an die Desoxyribonukleinsäure anbinden, zu verstehen. Die äußeren biologischen Einflüsse umfassen die Einwirkung fremder Organismen und deren Stoffwechsel-
produkte.

20 Das Sonnenlicht hat sowohl positive als auch negative Wirkungen auf die menschliche Haut und den gesamten Organismus. Bei geeigneter Dosierung steigert die Sonnenbestrahlung das Wohlbefinden und die Leistungsfähigkeit des Organismus. Die Vitamin-D-Synthese wird stimuliert, und schließlich entwickelt sich als Folge der Bestrahlung die begehrte Bräune
25 oder Pigmentierung der Haut. Die Pigmentierung ist Teil des Eigenschutzes der Haut, der auf einer Vielzahl von Mechanismen beruht. Im Zusammenhang mit dem Eigenschutz der Haut sind neben der Pigmentierung insbesondere die Verdickung der Hornschicht (Lichtschwiele), das Dark-Repair-System (enzymatische DNS-Reparatur), die Redoxsysteme
30 zur Kontrolle von radikalischen Reaktionen und die Synthese von Urocaninsäure von Bedeutung (P. Finkel, "Lichtschutzmittel" in W. Umbach, Kosmetik, 2. Auflage, 1995, 147-163, Georg Thieme Verlag, Stuttgart).

35 Eine übermäßige Sonnenbestrahlung führt sowohl zu akuten Hautschäden wie beispielsweise Sonnenbrand als auch zu chronischen Veränderungen wie z.B. Hautalterung oder Hautkrebs. Der Sonnenbrand (Erythema

solare) entwickelt sich überwiegend als Folge der UV-B-Bestrahlung. Die UV-A-Strahlung hat dagegen einen vergleichsweise geringen Einfluß auf seine Entstehung. Der Sonnenbrand kann von einer leichten Rötung bis hin zu einer starken Verbrennung mit Blasenbildung auftreten. Da diese Folgen frühestens 4-6 h nach der Bestrahlung auftreten, ist es für Gegenmaßnahmen zu spät. Sonnenbrand ist ein Beleg für akute Hautschädigungen, die für chronische Veränderungen der Haut von Relevanz sein können. Mehrere Sonnenbrände - ganz besonders in der Kindheit - erhöhen deutlich das Hautkrebsrisiko. Ursachen hierfür sind Schädigungen, insbesondere der Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen und eine fehlerhafte Reparatur der geschädigten Desoxyribonukleinsäure im Zellkern sowie wahrscheinlich die immunsuppressive Wirkung der UV-Strahlung, d.h. die Schwächung der Immunreaktion durch UV-Bestrahlung. Die übermäßige UV-A- und UV-B-Exposition trägt zur Hautalterung bzw. Lichtalterung bei, z.B. in Form von strukturellen Veränderungen des Bindegewebes (aktinische Elastose). Die übermäßige UV-B-Exposition ist die wesentliche Ursache für chronische Hautveränderungen.

Aufgrund eines veränderten Freizeitverhaltens, wie z.B. ausgiebiges Sonnenbaden oder Fernreisen in Länder mit einer starken Sonneneinstrahlung, sind die Gefahren einer UV-Schädigung der Hautzellen in den letzten Jahren stark angestiegen, was sich wiederum in einer Erhöhung des Hautkrebsrisikos niederschlägt (P. Finkel, "Lichtschutzmittel" in W. Umbach, Kosmetik, 2. Auflage, 1995, 147-163, Georg Thieme Verlag, Stuttgart). Ein besonderes Gefahrenpotential stellen Fernreisen in Länder mit starker Sonneneinstrahlung im Winter dar. Die Winterhaut, z.B. von Nordeuropäern, ist wenig pigmentiert und nicht gegen eine starke Sonnenexposition in tropischen, Äquator-nahen Regionen mit einer langen Sonnenscheindauer pro Tag geschützt. Zusätzlich ist das Hautkrebsrisiko in jüngerer Zeit durch eine zunehmende UV-Strahlung an der Erdoberfläche, ausgelöst durch die Abnahme der Ozonschicht, und durch eine höhere Lebenserwartung der Menschheit deutlich angestiegen.

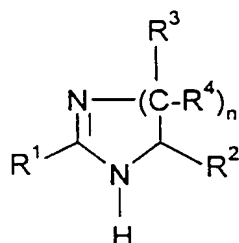
Es bestand daher die Aufgabe, kosmetische Formulierungen zur Verfügung zu stellen, deren Anwendung die obengenannten Hautprobleme beseitigen oder zumindest mindern und insbesondere zum Schutz und zur

Stabilisierung der Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen geeignet sind.

Insbesondere bestand die Aufgabe, kosmetische Formulierungen zur Verfügung zu stellen, die zum Schutz und zur Stabilisierung der Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen vor physikalischen, chemischen und biologischen Einflüssen wie z.B. vor Strahlung (UV-, VIS- und IR-Strahlung), insbesondere UV-Strahlung, vor denaturierenden Substanzen, vor Enzymen, insbesondere Endonukleasen und Restriktionsenzymen und vor Viren, insbesondere Herpes-Viren, geeignet sind.

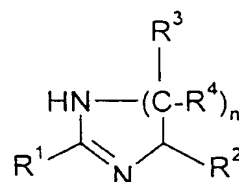
Überraschend wurde nun gefunden, daß diese Aufgabe durch die Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib

15



Ia

20



Ib,

25

den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, wobei

R¹ H oder Alkyl,

35

- R^2 H, COOH, COO-Alkyl oder CO-NH- R^5 ,
- R^3 und R^4 jeweils unabhängig voneinander H oder OH,
- 5 n 1, 2 oder 3,
- Alkyl einen Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, und
- 10 R^5 H, Alkyl, einen Aminosäurerest, Dipeptidrest oder Tripeptidrest

bedeuten,

- 15 in kosmetischen Formulierungen gelöst wird.

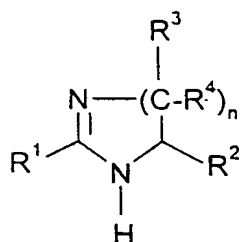
Es wurde zudem gefunden, daß die Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib zusammen mit einem oder mehreren UV-Filtern zur Herstellung einer kosmetischen Formulierung zum Schutz und zur Stabilisierung der Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen vor UV-Strahlung besonders
20 geeignet ist.

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung werden alle vor- und nachstehenden Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib als "Ectoin oder Ectoin-Derivate" bezeichnet.
30

Die Erfindung betrifft weiterhin kosmetische Formulierungen enthaltend

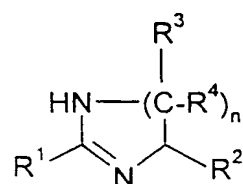
- 35 a) eine oder mehrere Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib

5



Ia

10



Ib,

15

den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, wobei

20

R^1 H oder Alkyl,

R^2 H, COOH, COO-Alkyl oder CO-NH- R^5 ,

25

R^3 und R^4 jeweils unabhängig voneinander H oder OH,

n 1, 2 oder 3,

30

Alkyl einen Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, und

R^5 H, Alkyl, einen Aminosäurerest, Dipeptidrest oder Tripeptidrest

35

bedeuten

und

b) einen oder mehrere UV-Filter.

5 Kosmetische Formulierungen, die Ectoin oder Ectoin-Derivate enthalten, schützen insbesondere Desoxyribonukleinsäure von menschlichen Hautzellen gegen physikalischen Streß, insbesondere gegen Strahlung wie z.B. UV-, VIS oder IR-Strahlung, und gegen chemischen Streß. Insbesondere
10 Formulierungen enthaltend Ectoin oder Ectoin-Derivate und Sonnenschutzfilter, insbesondere UV-Filter, bieten einen hervorragenden Schutz vor UV-induzierten Schäden der Desoxyribonukleinsäure von Hautzellen.

Nach UV-Bestrahlung treten in der menschlichen Epidermis einzeln
15 gelagerte Keratinozyten mit besonderer Charakteristik auf, die sogenannten "Sunburn cells" (SBCs). Die Bildung von "Sunburn cells" wird als ein Beispiel von programmiertem Zelltod, der Apoptose, beschrieben. Die Entstehung von "Sunburn cells" mit ihrem charakteristischen
20 pyknotischen Kern und dem eosinophilen Zytoplasma läßt sich in der menschlichen Epidermis bereits nach einer moderaten Bestrahlung mit UVC oder UVB oder UVA in Kombination mit Psoralen nachweisen. Das Schicksal einer SBC, einem Keratinozyten welcher eine abnormale und viel zu frühe Verhornung zeigt, ist bis heute unbekannt. Welches
25 photochemische Ereignis zur Bildung von SBCs führt, ist ebenfalls unbekannt. Es gibt jedoch Evidenzen dafür, daß UV-vermittelte DNA-Schäden bei diesem Prozeß eine wichtige Rolle spielen. Es wird z.B. vermutet, daß die Anwesenheit von SBCs ein möglicher Indikator und Hinweis auf ein gegebenes photokarzinogenes Potential sein könne. SBCs
30 zeigen im Eosin angefärbten Zytoplasma starke Vacuolenbildung, sowie eine Schrumpfung mit stark kondensiertem Zellkern. Sie lösen sich aus dem Zellverband und zeigen eine überstürzte, vorzeitige Verhornung. Sie sind histologisch in den Schnittpräparaten leicht nachweisbar und im Verhältnis zur Zahl der Basalzellen oder zur Gesamtzahl der Keratinozyten quantitativ auswertbar. Das Aktionsspektrum der SBC-Bildung deckt sich mit dem des Erythems. Eine Photo-Augmentation durch UVA und
35 Psoralene (PUVA) führt ebenfalls zu einer dosisabhängigen SBC-Bildung [A.R. Young, 'The sunburn cell', Photodermatology 4 (1987) 127-134; G.

Kindl et al., 'Die Wirkung der Sonnenstrahlen' in: Licht und Haut, Verlag Govi, Frankfurt am Main (1993) 51-69; H. Iizuka, 'Effects of UVB irradiation on epidermal adenylate cyclase responses in vitro: its relation to Sunburn cell formation', Arch. Dermatol. Res. 280 (1988) 163-167].

5

Im Rahmen der vorliegenden Erfindung wurde Ectoin bezüglich seines möglichen Potentials zur Reduktion der UV-vermittelten Bildung von SBCs untersucht. Um dieses Potential eines Wirkstoffkonzeptes korrekt analysieren zu können, ist es erforderlich, das Erscheinen und die Bildung von SBCs in einem physiologischen Modell zu studieren, welches der in vivo Situation möglichst am nächsten kommt. Diese Voraussetzung ist am ehesten beim Einsatz organotypischer Hautmodelle für solche Studien gegeben. Es konnte gezeigt werden, daß zwischen der Bildungsrate von SBCs und der verabreichten UV-Dosis eine Dosiswirkungsbeziehung gegeben ist. Diese Dosiswirkungsbeziehung konnte durch eine Vorbehandlung mit Ectoin signifikant in höhere UV-Dosisbereiche verschoben werden (s. Abb. 1).

10

15

20

Topisch applizierte Formulierungen, die Ectoin oder Ectoin-Derivate enthalten, schützen zudem Nukleinsäuren vor denaturierenden Substanzen und Enzymen wie z.B. Endonukleasen und Restriktionsenzymen. Ectoin oder Ectoin-Derivate können auch in kosmetischen Formulierungen gegen Viren, insbesondere Herpes-Viren, verwendet werden.

25

Bei Ectoin und den Ectoin-Derivaten handelt es sich um niedermolekulare, cyclische Aminosäurederivate, die aus verschiedenen halophilen Mikroorganismen gewonnen werden können. Sowohl Ectoin als auch Hydroxyectoin besitzen den Vorteil, daß sie nicht mit dem Zellstoffwechsel reagieren.

30

Die Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib können in den kosmetischen Zubereitungen als optische

35

Isomere, Diastereomere, Racemate, Zwitterionen, Kationen oder als Gemisch derselben vorliegen. Unter den Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, sind diejenigen Verbindungen bevorzugt, worin R^1 H oder CH_3 , R^2 H oder $COOH$, R^3 und R^4 jeweils unabhängig voneinander H oder OH und n 2 bedeuten. Unter den Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib sind die Verbindungen (S)-1,4,5,6-Tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidincarbonsäure (Ectoin) und (S,S)-1,4,5,6-Tetrahydro-5-hydroxy-2-methyl-4-pyrimidincarbonsäure (Hydroxyectoin) insbesondere bevorzugt.

Unter dem Begriff "Aminosäure" werden die stereoisomeren Formen, z.B. D- und L-Formen, folgender Verbindungen verstanden: Alanin, β -Alanin, Arginin, Asparagin, Asparaginsäure, Cystein, Glutamin, Glutaminsäure, Glycin, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Serin, Threonin, Tryptophan, Tyrosin, Valin, γ -Aminobutyrat, $N\epsilon$ -Acetyllysin, $N\delta$ -Acetylornithin, $N\gamma$ -Acetyldiaminobutyrat und $N\alpha$ -Acetyldiaminobutyrat. L-Aminosäuren sind bevorzugt.

Aminosäurereste leiten sich von den entsprechenden Aminosäuren ab.

Die Reste folgender Aminosäuren sind bevorzugt: Alanin, β -Alanin, Asparagin, Asparaginsäure, Glutamin, Glutaminsäure, Glycin, Serin, Threonin, Valin, γ -Aminobutyrat, $N\epsilon$ -Acetyllysin, $N\delta$ -Acetylornithin, $N\gamma$ -Acetyldiaminobutyrat und $N\alpha$ -Acetyldiaminobutyrat.

Die Di- und Tripeptidreste sind ihrer chemischen Natur nach Säureamide und zerfallen bei der Hydrolyse in 2 oder 3 Aminosäuren. Die Aminosäuren in den Di- und Tripeptidresten sind durch Amidbindungen miteinander verbunden. Bevorzugte Di- und Tripeptidreste sind aus den bevorzugten Aminosäuren aufgebaut.

35

Die Alkylgruppen umfassen die Methylgruppe CH_3 , die Ethylgruppe C_2H_5 , die Propylgruppen $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ und $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ sowie die Butylgruppen $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $\text{H}_3\text{CCHCH}_2\text{CH}_3$, $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ und $\text{C}(\text{CH}_3)_3$. Die bevorzugte Alkylgruppe ist die Methylgruppe.

5

Bevorzugte physiologisch verträgliche Salze der Verbindungen der Formeln Ia und Ib sind beispielsweise Alkali-, Erdalkali- oder Ammoniumsalze, wie Na-, K-, Mg- oder Ca-Salze, sowie Salze abgeleitet von den organischen Basen Triethylamin oder Tris-(2-hydroxy-ethyl)-amin. Weitere bevorzugte physiologisch verträgliche Salze der Verbindungen der Formeln Ia und Ib ergeben sich durch Umsetzung mit anorganischen Säuren wie Salzsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure oder mit organischen Carbon- oder Sulfonsäuren wie Essigsäure, Citronensäure, Benzoessäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Weinsäure und p-Toluolsulfonsäure.

10

15

20

Verbindungen der Formeln Ia und Ib, in denen basische und saure Gruppen wie Carboxyl- oder Aminogruppen in gleicher Zahl vorliegen, bilden innere Salze.

25

Die Herstellung der Verbindungen der Formel Ia und Ib ist in der Literatur beschrieben (DE 43 42 560). (S)-1,4,5,6-Tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidincarbonsäure oder (S,S)-1,4,5,6-Tetrahydro-5-hydroxy-2-methyl-4-pyrimidincarbonsäure können auch mikrobiologisch gewonnen werden (Severin et al., J. Gen. Microb. 138 (1992) 1629-1638).

30

Für die erfindungsgemäße Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib zusammen mit einem oder mehreren UV-Filtern und für die erfindungsgemäße kosmetische Formulierung enthaltend einen oder mehrere UV-Filter sind sowohl organische als auch anorganische UV-Filter geeignet.

35

Geeignete organische UV-Filter sind z.B. Benzoyl- oder Dibenzoylmethanderivate, Methoxyzimtsäureester, Salicylatderivate, Benzylidencampher-

derivate, Octocrylen, Benzophenone, Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure, 4-Aminobenzoessäure, Octyl-Triazon und Octyl-dimethyl PABA.

Geeignete anorganische UV-Filter sind z.B. Titandioxid und Zinkoxid.

5

Nach der vorliegenden Erfindung führt die Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib gegebenenfalls zusammen mit einem oder mehreren UV-Filtern zur Herstellung einer kosmetischen Formulierung vorzugsweise zum Schutz und zur Stabilisierung der Nukleinsäuren der Zellen der Epidermis, insbesondere der Keratinozyten, Melanozyten, Langerhans-Zellen und Merkel-Zellen.

15

Die Herstellung der kosmetischen Formulierung erfolgt, indem eine oder mehrere Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib gegebenenfalls zusammen mit einem oder mehreren UV-Filtern und gegebenenfalls mit Hilfs- und/oder Trägerstoffen in eine geeignete Formulierungsform gebracht werden. Die Hilfs- und Trägerstoffe stammen aus der Gruppe der Trägermittel, Konservierungsstoffe und anderer üblicher Hilfsstoffe.

20

Die kosmetischen Formulierungen auf der Grundlage einer oder mehrerer Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und gegebenenfalls zusätzlich auf der Grundlage von einem oder mehreren UV-Filtern werden äußerlich angewendet.

25

Als Anwendungsform seien z.B. genannt: Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Pasten, Salben, Gele, Cremes, Lotionen, Puder, Seifen, tensidhaltige Reinigungspräparate, Öle und Sprays. Zusätzlich zu einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln

30

35

5 Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und gegebenenfalls zusätzlich zu einem oder mehreren UV-Filtern werden der Formulierung beliebige übliche Trägerstoffe, Hilfsstoffe und gegebenenfalls weitere Wirkstoffe zugesetzt.

10 Vorzuziehende Hilfsstoffe stammen aus der Gruppe der Konservierungsstoffe, Antioxidantien, Stabilisatoren, Lösungsvermittler, Vitamine, Färbemittel, Geruchsverbesserer.

15 Salben, Pasten, Cremes und Gele können neben einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und gegebenenfalls neben einem oder mehreren UV-Filtern die üblichen Trägerstoffe enthalten, z.B. tierische und pflanzliche Fette, Wachse, Paraffine, Stärke, Traganth, Cellulosederivate, Polyethylenglykole, Silicone, Bentonite, Kieselsäure, Talkum und Zinkoxid oder Gemische dieser Stoffe.

20 Puder und Sprays können neben einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und gegebenenfalls neben einem oder mehreren UV-Filtern die üblichen Trägerstoffe enthalten, z.B. Milchzucker, Talkum, Kieselsäure, Aluminiumhydroxid, Calciumsilikat und Polyamid-Pulver oder Gemische dieser Stoffe. Sprays können zusätzlich die üblichen Treibmittel, z.B. Chlorfluorkohlenwasserstoffe, Propan/Butan oder Dimethylether, enthalten.

30 Lösungen und Emulsionen können neben einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und gegebenenfalls neben einem oder mehreren UV-Filtern die üblichen Trägerstoffe wie Lösungsmittel, Lösungsvermittler und Emulgatoren, z.B.

35

Wasser, Ethanol, Isopropanol, Ethylcarbonat, Ethylacetat, Benzylalkohol, Benzylbenzoat, Propylenglykol, 1,3-Butylglykol, Öle, insbesondere Baumwollsaatöl, Erdnußöl, Maiskeimöl, Olivenöl, Rizinusöl und Sesamöl, Glycerinfettsäureester, Polyethylenglykole und Fettsäureester des Sorbitans oder Gemische dieser Stoffe enthalten.

Suspensionen können neben einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und gegebenenfalls neben einem oder mehreren UV-Filtern die üblichen Trägerstoffe wie flüssige Verdünnungsmittel, z.B. Wasser, Ethanol oder Propylenglykol, Suspendiermittel, z.B. ethoxylierte Isostearylalkohole, Polyoxyethylensorbitester und Polyoxyethylensorbitanester, mikrokristalline Cellulose, Aluminiummetahydroxid, Bentonit, Agar-Agar und Traganth oder Gemische dieser Stoffe enthalten.

Seifen können neben einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und gegebenenfalls neben einem oder mehreren UV-Filtern die üblichen Trägerstoffe wie Alkalisalze von Fettsäuren, Salze von Fettsäurehalbestern, Fettsäure-eiweißhydrolysaten, Isothionate, Lanolin, Fettalkohol, Pflanzenöle, Pflanzenextrakte, Glycerin, Zucker oder Gemische dieser Stoffe enthalten.

Tensidhaltige Reinigungsprodukte können neben einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und gegebenenfalls neben einem oder mehreren UV-Filtern die üblichen Trägerstoffe wie Salze von Fettalkoholsulfaten, Fettalkoholethersulfaten, Sulfobernsteinsäurehalbestern, Fettsäureeiweißhydrolysaten, Isothionate, Imidazolinderivate, Methyltaurate, Sarkosinate, Fettsäureamidethersulfate, Alkylamidobetaine, Fettalkohole, Fettsäureglyceride, Fettsäurediethanolamide, pflanzliche und synthetische Öle,

Lanolinderivate, ethoxylierte Glycerinfettsäureester oder Gemische dieser Stoffe enthalten.

5 Gesichts- und Körperöle können neben einer oder mehrerer Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und gegebenenfalls neben einem oder mehreren UV-Filtern die üblichen
10 Trägerstoffe wie synthetische Öle wie Fettsäureester, Fettalkohole, Silikonöle, natürliche Öle wie Pflanzenöle und ölige Pflanzenauszüge, Paraffinöle, Lanolinöle oder Gemische dieser Stoffe enthalten.

Weitere typisch kosmetische Anwendungsformen sind auch Lippenstifte, Lippenpflegestifte, Mascara, Eyeliner, Lidschatten, Rouge, Puder-,
15 Emulsions- und Wachs-Make up sowie Sonnenschutz-, Prä-Sun- und After-Sun-Präparate.

Der Anteil der Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib in der kosmetischen Formulierung beträgt vorzugsweise von 0,0001 bis 50 Gew.%, besonders bevorzugt von 0,001 bis 10 Gew.% bezogen auf die gesamte kosmetische Formulierung.

25 Wenn UV-Filter in der kosmetischen Formulierung enthalten sind, beträgt ihr Anteil vorzugsweise von 0,001 bis 50 Gew.-%, besonders bevorzugt von 0,01 Gew.-% bis 10 Gew.-% bezogen auf die gesamte kosmetische Formulierung.

30 DNS-Schäden von Hautzellen können beispielsweise durch etablierte und validierte Tests bestimmt werden, z.B. mittels "Comet-Assay".

Der Nachweis des Schutzes der DNS durch Ectoin oder seine Derivate vor Endonukleasen oder Restriktionsenzymen kann z.B. in vitro erfolgen.
35 Hierzu wird gezielt eine Fragmentierung der DNS durch die genannten Enzyme herbeigeführt. Der Fragmentierungsgrad wird anschließend

mittels Elektrophorese bestimmt. Ein Vergleich der Ergebnisse für Fragmentierungsversuche, die einerseits in Gegenwart von Ectoin und andererseits ohne Ectoin durchgeführt wurden, liefert einen Nachweis des Schutzes der DNS durch Ectoin oder Ectoin-Derivaten vor Endonukleasen und Restriktionsenzymen.

Alle Verbindungen oder Komponenten, die in den kosmetischen Formulierungen verwendet werden können, sind entweder bekannt und käuflich erwerbbar oder können nach bekannten Methoden synthetisiert werden.

Die folgenden Beispiele dienen zur Verdeutlichung der Erfindung und sind keinesfalls als Limitierung aufzufassen. Alle %-Angaben sind Gewichtsprozent.

15 **Beispiel 1**

Aus folgenden Komponenten wird ein erfindungsgemäßes Hautpflegegel (O/W) enthaltend Ectoin hergestellt:

				<u>Gew.-%</u>
20	A Mandelöl	(2)		8.0
	Eutanol G	(3)		2.0
	Luvitol EHO	(4)		6.0
	Oxynex K flüssig	(Art.-Nr. 108324)	(1)	0.05
25	B Panthenol	(Art.-Nr. 501375)	(1)	0.5
	Karion F flüssig	(Art.-Nr. 102993)	(1)	4.0
	Konservierungsmittel			q.s.
	Wasser, demineralisiert			ad 100
30	C Sepigel 305	(5)		3.0
	D Ectoin	(1)		1.0

35

Als Konservierungsmittel können
 0.05 % Propyl-4-hydroxybenzoat (Art.-Nr. 107427) oder
 0.15 % Methyl-4-hydroxybenzoat (Art.-Nr. 106757)
 verwendet werden.

5

Herstellung:

Die vereinigte Phase B wird unter Rühren langsam in die Phase C einge-
 tragen. Danach wird die vorgelöste Phase A zugesetzt. Es wird gerührt bis
 die Phasen homogen gemischt sind. Anschließend wird Phase D zugege-
 ben und bis zur Homogenität gerührt.

10

Bezugsquellen:

- (1) Merck KGaA, Darmstadt
- (2) Gustav Heess, Stuttgart
- (3) Henkel KGaA, Düsseldorf
- (4) BASF AG, Ludwigshafen
- (5) Seppic, Frankreich

15

Beispiel 2

20

Aus folgenden Komponenten wird eine erfindungsgemäße Creme (O/W)
 enthaltend Ectoin hergestellt:

				<u>Gew.-%</u>
25	A Paraffin, dünnflüssig	(Art.-Nr. 107174)	(1)	8.0
	Isopropylmyristat	(Art.-Nr. 822102)	(1)	4.0
	Mirasil CM 5		(2)	3.0
	Stearinsäure		(1)	3.0
	Arlacel 165		(3)	5.0
30	B Glycerin, 87 %	(Art.-Nr. 104091)	(1)	3.0
	Germaben II		(4)	0.5
	Wasser, demineralisiert			ad 100
35	C Parfüm Bianca		(5)	0.3
	D Ectoin		(1)	1.0

Herstellung:

Zunächst werden die Phasen A und B getrennt auf 75 °C erwärmt. Danach wird Phase A unter Rühren langsam zu Phase B gegeben und solange ge-
 5 rührt bis eine homogene Mischung entsteht. Nach Homogenisierung der Emulsion wird unter Rühren auf 30 °C abgekühlt, die Phasen C und D zugegeben und bis zur Homogenität gerührt.

Bezugsquellen:

- 10 (1) Merck KGaA, Darmstadt
 (2) Rhodia
 (3) ICI
 (4) ISP
 (5) Dragoco

15

Beispiel 3

Aus folgenden Komponenten wird eine erfindungsgemäße Sonnenschutz-
 lotion (W/O) enthaltend Ectoin und den UV-Filter Eusolex T-2000 herge-
 stellt:

20

			<u>Gew.-%</u>
	A	Abil WE 09	(2) 5.0
		Jojoba Öl	(3) 6.0
		Cetiol V	(4) 6.0
25		Prisorine 2021	(5) 4.5
		Ricinusöl	(6) 1.0
		Lunacera M	(7) 1.8
		Miglyol 812 Neutralöl	(8) 4.5
30	B	Eusolex T-2000 (Art.-Nr. 105373)	(1) 3.0
		Glycerin, 87 % (Art.-Nr. 104091)	(1) 2.0
		Natriumchlorid (Art.-Nr. 106400)	(1) 0.4
		Konservierungsmittel	q.s.
		Wasser, demineralisiert	ad 100

35

C Parfüm	(5)	0.3
D Ectoin	(1)	1.0

5 Als Konservierungsmittel können
0.05 % Propyl-4-hydroxybenzoat (Art.-Nr. 107427) oder
0.15 % Methyl-4-hydroxybenzoat (Art.-Nr. 106757)
verwendet werden.

10 Herstellung:
Zunächst wird Eusolex T-2000 in Phase B eingerührt und auf 80 °C
erwärmt. Danach wird Phase A auf 75 °C erwärmt und unter Rühren
Phase B langsam zugegeben. Es wird bis zur Homogenität gerührt und
anschließend unter Rühren auf 30 °C abgekühlt. Danach werden die
15 Phasen C und D zugegeben und bis zur Homogenität gerührt.

Bezugsquellen:

- (1) Merck KGaA, Darmstadt
- (2) Th. Goldschmidt AG, Essen
- 20 (3) H. Lamotte, Bremen
- (4) Henkel KGaA, Düsseldorf
- (5) Unichema, Emmerich
- (6) Gustav Heess, Stuttgart
- (7) H.B. Fuller, Lüneburg
- 25 (8) Hüls Troisdorf AG, Witten

Beispiel 4

Es wird untersucht, ob Ectoin eine inhibierende Wirkung auf die UV-
induzierte Bildung von „Sunburn cells“ in organotypischen Hautäquivalenten
30 aufweist.

Die Untersuchungen werden nach der in A.R. Young, 'The sunburn cell',
Photodermatology 4 (1987) 127-134 beschriebenen Methode
durchgeführt. Als Zellen werden organotypische Hautmodelle verwendet.
35 Es werden Skinethic® Hautäquivalente der Firma Skinethic, Nice, France
(Lot.-Nr. PK 2 DT 07 99 022A 0603), eingesetzt. Ectoin wird unmittelbar

vor Beginn der Prüfung eingewogen und in der Einsatzkonzentration von 4 % in EBSS (Firma Gibco BRL; Best.-Nr. 15015-044) gelöst. Die organotypischen Hautäquivalente (Skinethic®) werden je nach Behandlungsgruppe für 24 Stunden mit oder ohne Ectoin (4%) bei 37 °C und 5 % CO₂ inkubiert. Anschließend erfolgt bei beiden Behandlungsgruppen eine UV-Bestrahlung (0, 30, 60, 100, 200, 300 mJ/cm² UVB) mit dem Sonnensimulator (SOL 500, Dr. Hönle). Nach einer weiteren 24-stündigen Inkubation bei 37 °C und 5% CO₂ werden alle Hautäquivalente histologisch aufbereitet und auf induzierte "Sunburn cells" hin untersucht.

Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1 und 2 aufgeführt und in Abb. 1 graphisch dargestellt.

Tab. 1 Anzahl ausgezählter "Sunburn cells" in den sechs einzelnen Schnittsektionen der UV-bestrahlten Hautäquivalente (keine Vorbehandlung mit Ectoin).

	Bestrahlung [mJ/cm ²]					
Schnitt	0	30	60	100	200	300
1	0	2	9	75	>100	>100
2	0	2	14	89	>100	>100
3	0	4	16	83	>100	>100
4	1	2	12	73	>100	>100
5	0	5	14	82	>100	>100
6	0	4	18	98	>100	>100
MW	0,17	3,17	13,83	83,33	>100	>100
SD	0,41	1,33	3,13	9,22	0,00	0,00

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung.

Tab. 2 Anzahl ausgezählter "Sunburn cells" in den sechs einzelnen Schnittsektionen der UV-bestrahlten Hautäquivalente (Vorbehandlung mit Ectoin).

Schnitt	Bestrahlung [mJ/cm ²]					
	0	30	60	100	200	300
1	0	0	3	8	32	>100
2	0	2	3	9	34	>100
3	0	1	2	9	39	>100
4	0	1	4	10	32	>100
5	0	2	3	10	39	>100
6	0	3	2	8	35	>100
MW	0,00	1,50	2,83	9,00	35,17	>100
SD	0,00	1,05	0,75	0,89	3,19	0,00

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung.

In Abb. 1 sind die Mittelwerte MW der histologisch ausgewerteten Schnitte sowie die Standardabweichung SD aus Tab. 1 und Tab. 2 aufgeführt.

Die histologische Betrachtung der beiden unbestrahlten Kontroll-Kulturen (ohne und mit 24-stündiger Vorinkubation mit Ectoin) zeigt, daß es sich um ein lebendes, mehrschichtiges Epithel handelt. An den Hautäquivalenten war deutlich zu erkennen, daß diesem Epithel ein gut strukturiertes Stratum corneum als äußerste Barriere aufliegt. Zwischen Stratum corneum und den noch vitalen Zellschichten sind deutlich die stark granulierten Zellen des Stratum granulosum Äquivalentes zu erkennen. In sämtlichen analysierten Schnittsektionen der unbestrahlten Kontrollen war in tieferen Schichten nur eine diskeratotische Zelle nachweisbar.

Die epidermalen Gewebe, welche mit 30 mJ/cm² UVB bestrahlt wurden, weisen grundsätzlich den gleichen morphologischen Aufbau auf. Es sind jedoch bereits vereinzelt Sunburn cells (SBCs) nachweisbar, wobei tendenziell im Präparat ohne Vorkonditionierung mehr SBCs nachweisbar sind (vgl. Tab.2).

Nach der Bestrahlung mit 60 mJ/cm^2 UVB setzt sich diese Tendenz fort. Es sind nun in den mit Ectoin vorbehandelten organotypischen Hautmodellen zwar vereinzelt SBCs detektierbar ($2,83 \pm 0,75$ pro Sektion), jedoch deutlich weniger als in dem nicht mit Ectoin behandelten Hautmodell (vgl. Tab. 2).

Bei einer Bestrahlungsdosis von 100 mJ/cm^2 UVB ist nach wie vor bei beiden Versuchsansätzen ohne und mit 24-stündiger Vorinkubation mit Ectoin die Übersichtsmorphologie erhalten geblieben, die Anzahl UV-induzierter SBCs nimmt jedoch im Versuchsansatz ohne Vorbehandlung mit Ectoin drastisch zu ($83,33 \pm 9,22$ pro Sektion), wohingegen es sich im vorbehandelten Modell immer noch um äußerst seltene Ereignisse handelt ($9 \pm 0,89$) (vgl. Tab. 2).

Nach der Bestrahlung mit 200 mJ/cm^2 UVB kommt es bei dem nicht vorbehandelten Hautmodell bereits zu so massiven Schädigung und SBC Bildung, daß eine genaue Quantifizierung nicht mehr möglich ist. Die mit Ectoin vorbehandelte Kultur weist nun auch deutliche Bildungsraten von SBCs auf. Die Anzahl ($35,17 \pm 3,19$) bleibt jedoch deutlich unter dem Niveau des 100 mJ/cm^2 UVB Ansatzes ohne Vorbehandlung (vgl. Tab. 2).

Nach der Bestrahlung mit 300 mJ/cm^2 UVB ist bei beiden Versuchsansätzen der UV-vermittelte Schaden so groß, daß eine Quantifizierung gebildeter SBCs nicht mehr möglich ist. Bei dieser gewählten hohen UV-Dosis kommt es bereits teilweise zu nekrotischen Gewebeerstörungen.

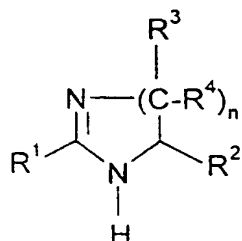
Es konnte somit gezeigt werden, daß zwischen der Bildungsrate von SBCs und der verabreichten UV-Dosis eine Dosiswirkungsbeziehung gegeben ist. Diese Dosiswirkungsbeziehung konnte jedoch durch eine Vorbehandlung mit Ectoin signifikant in höhere UV-Dosisbereiche verschoben werden.

Patentansprüche

1. Verwendung von einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib

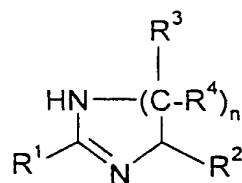
5

10



Ia

15



Ib,

20

den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, wobei

25

R^1 H oder Alkyl,

R^2 H, COOH, COO-Alkyl oder CO-NH- R^5 ,

30

R^3 und R^4 jeweils unabhängig voneinander H oder OH,

n 1, 2 oder 3,

Alkyl einen Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, und

35

R^5 H, Alkyl, einen Aminosäurerest, Dipeptidrest oder Tripeptidrest

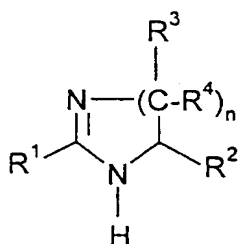
- 5 bedeuten zur Herstellung einer kosmetischen Formulierung zum Schutz und zur Stabilisierung der Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen.
- 10 2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen vor physikalischen, chemischen und biologischen Einflüssen geschützt und stabilisiert werden.
- 15 3. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen vor UV-Strahlung geschützt werden.
- 20 4. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen vor denaturierenden Substanzen geschützt und stabilisiert werden.
- 25 5. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen vor Enzymen geschützt und stabilisiert werden.
- 30 6. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen vor Viren geschützt und stabilisiert werden.
- 35 7. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäuren von menschlichen Hautzellen vor Herpes-Viren geschützt und stabilisiert werden.

8. Verwendung nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die kosmetische Formulierung zusätzlich zu einer oder mehreren Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib einen oder mehrere UV-Filter enthält.
9. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäuren der Zellen der Epidermis geschützt und stabilisiert werden.
10. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß man eine oder mehrere Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib gegebenenfalls zusammen mit einem oder mehreren UV-Filtern zur äußeren Anwendung in Form einer Lösung, einer Suspension, einer Emulsion, einer Paste, einer Salbe, eines Gels, einer Creme, einer Lotion, eines Puders, einer Seife, eines tensidhaltigen Reinigungspräparates, eines Öls, eines Lippenstifts, eines Lippenpflegestifts, einer Mascara, eines Eyeliners, von Lidschatten, von Rouge, eines Puder-, Emulsions- oder Wachs-Make ups, eines Sonnenschutz-, Prä-Sun- und After-Sun-Präparats oder eines Sprays einsetzt.
11. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil der Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib von 0,0001 bis 50 Gew.% bezogen auf die gesamte kosmetische Formulierung beträgt.

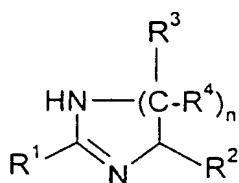
12. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindungen der Formeln Ia und Ib ausgewählt sind aus den Verbindungen (S)-1,4,5,6-Tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidincarbonsäure und (S,S)-1,4,5,6-Tetrahydro-5-hydroxy-2-methyl-4-pyrimidincarbonsäure.

13. Kosmetische Formulierung enthaltend

- a) eine oder mehrere Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib



Ia



Ib,

den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, und den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, wobei

R^1 H oder Alkyl,

R^2 H, COOH, COO-Alkyl oder CO-NH- R^5 ,

R^3 und R^4 jeweils unabhängig voneinander H oder OH,

n 1, 2 oder 3,

5

Alkyl einen Alkylrest mit 1 bis 4 Kohlenstoffatomen, und

R^5 H, Alkyl, einen Aminosäurerest, Dipeptidrest oder
Tripeptidrest

10

bedeuten

und

15

b) einen oder mehrere UV-Filter.

20

14. Kosmetische Formulierung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindungen der Formeln Ia und Ib ausgewählt sind aus den Verbindungen (S)-1,4,5,6-Tetrahydro-2-methyl-4-pyrimidin-carbonsäure und (S,S)-1,4,5,6-Tetrahydro-5-hydroxy-2-methyl-4-pyrimidincarbonsäure.

25

15. Kosmetische Formulierung nach einem der Ansprüche 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, daß die UV-Filter ausgewählt sind aus organischen und anorganischen UV-Filtern.

30

16. Kosmetische Formulierung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, daß die organischen UV-Filter ausgewählt sind aus Benzoyl- oder Dibenzoylmethanderivaten, Methoxyzimtsäureestern, Salicylatderivaten, Benzylidencampherderivaten, Octocrylen, Benzophenonen, Phenylbenzimidazol-5-sulfonsäure, 4-Aminobenzoessäure, Octyl-Triazon und Octyl-dimethyl PABA.

35

17. Kosmetische Formulierung nach einem der Ansprüche 15 oder 16, dadurch gekennzeichnet, daß die anorganischen UV-Filter ausgewählt sind aus Titandioxid und Zinkoxid.
- 5 18. Kosmetische Formulierung nach einem der Ansprüche 13 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil der Verbindungen ausgewählt aus den Verbindungen der Formeln Ia und Ib, den physiologisch verträglichen Salzen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib, und
10 den stereoisomeren Formen der Verbindungen der Formeln Ia und Ib von 0,0001 bis 50 Gew.% bezogen auf die gesamte kosmetische Formulierung beträgt und der Anteil der UV-Filter von 0,01 bis 10 Gew.% bezogen auf die gesamte kosmetische Formulierung beträgt.
- 15 19. Kosmetische Formulierung nach einem der Ansprüche 13 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß sie in Form einer Lösung, einer Suspension, einer Emulsion, einer Paste, einer Salbe, eines Gels, einer Creme, einer Lotion, eines Puders, einer Seife, eines tensidhaltigen
20 Reinigungspräparates, eines Öls, eines Lippenstifts, eines Lippenpflegestifts, einer Mascara, eines Eyeliners, von Lidschatten, von Rouge, eines Puder-, Emulsions- oder Wachs-Make ups, eines Sonnenschutz-, Prä-Sun- und After-Sun-Präparats oder eines Sprays
25 vorliegt.
- 30
- 35

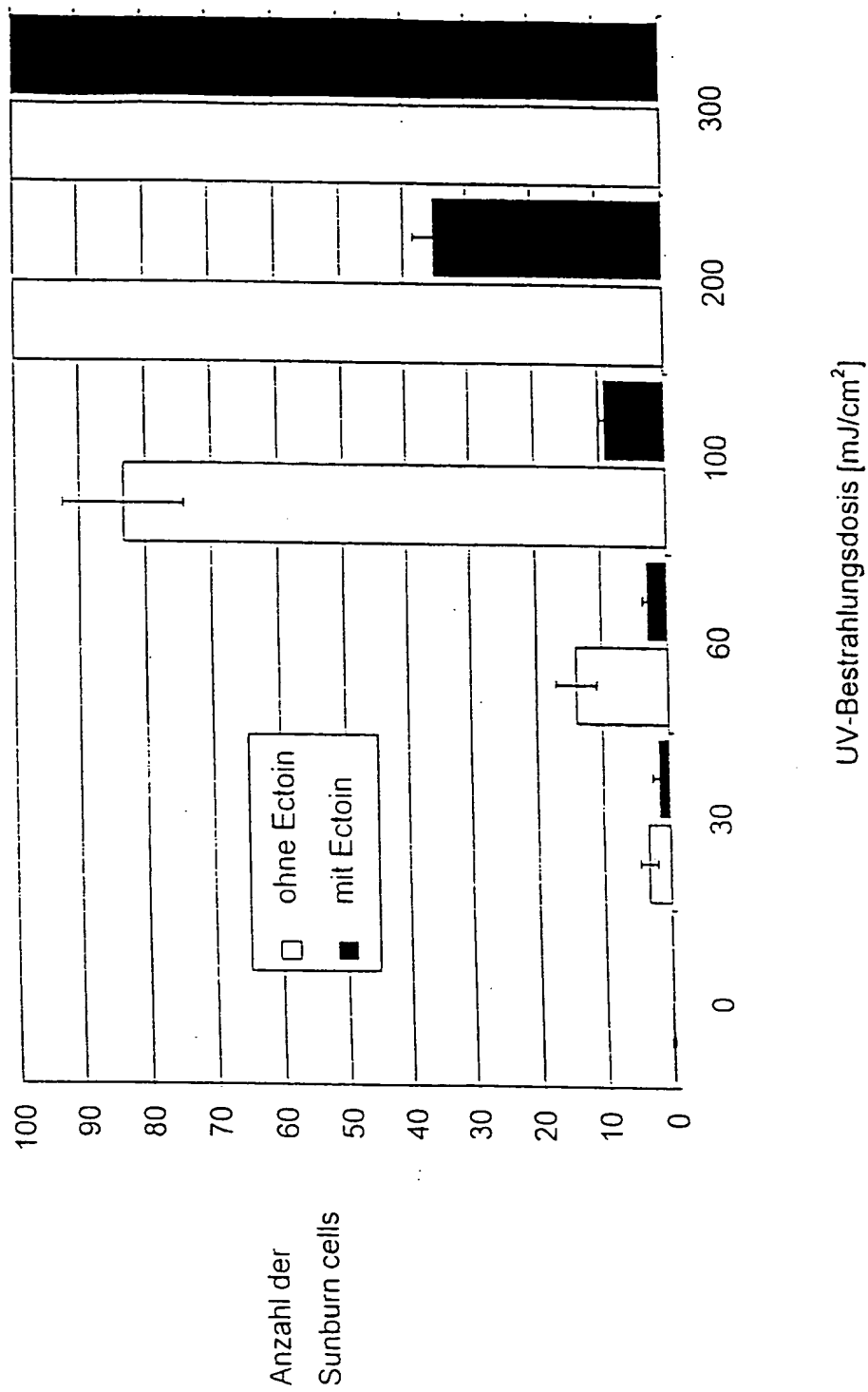


Abb. 1 Anzahl der Sunburn cells nach UV-Bestrahlung

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 99/05237

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K7/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 13020 A (UNILEVER PLC, UNILEVER N.V.) 2 April 1998 (1998-04-02) claim 1; examples 17-19 ---	1, 4, 14
X	EP 0 275 719 A (CHARLES OF THE RITZ GROUP LTD) 27 July 1988 (1988-07-27) the whole document ---	1, 14
X	US 5 738 858 A (A. BURGER) 14 April 1998 (1998-04-14) the whole document -----	1, 5

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 November 1999

Date of mailing of the international search report

22/11/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Glikman, J-F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 99/05237

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9813020 A	02-04-1998	AU 4775897 A CZ 9901089 A EP 0932387 A PL 332430 A	17-04-1998 11-08-1999 04-08-1999 13-09-1999
EP 275719 A	27-07-1988	AU 607174 B AU 8310187 A DK 689987 A EG 18282 A FI 875686 A JP 63233912 A NZ 223055 A PH 24675 A PT 86483 A,B	28-02-1991 30-06-1988 30-09-1988 30-08-1992 01-07-1988 29-09-1988 26-10-1990 07-09-1990 01-01-1988
US 5738858 A	14-04-1998	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/05237

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 A61K7/48

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 13020 A (UNILEVER PLC, UNILEVER N.V.) 2. April 1998 (1998-04-02) Anspruch 1; Beispiele 17-19 ---	1, 4, 14
X	EP 0 275 719 A (CHARLES OF THE RITZ GROUP LTD) 27. Juli 1988 (1988-07-27) das ganze Dokument ---	1, 14
X	US 5 738 858 A (A. BURGER) 14. April 1998 (1998-04-14) das ganze Dokument -----	1, 5

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

16. November 1999

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

22/11/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Glikman, J-F

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Intern: 115 Aktzeichen

PCT/EP 99/05237

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9813020 A	02-04-1998	AU 4775897 A	17-04-1998
		CZ 9901089 A	11-08-1999
		EP 0932387 A	04-08-1999
		PL 332430 A	13-09-1999
EP 275719 A	27-07-1988	AU 607174 B	28-02-1991
		AU 8310187 A	30-06-1988
		DK 689987 A	30-09-1988
		EG 18282 A	30-08-1992
		FI 875686 A	01-07-1988
		JP 63233912 A	29-09-1988
		NZ 223055 A	26-10-1990
		PH 24675 A	07-09-1990
		PT 86483 A,B	01-01-1988
US 5738858 A	14-04-1998	KEINE	